RESOLUCIÓN OIV-OENO 496-2013

MONOGRAFÍA SOBRE AUTOLISADOS DE LEVADURAS

LA ASAMBLEA GENERAL

Visto el artículo 2 párrafo 2 iv del Acuerdo del 3 de abril de 2001, por el que se crea la Organización Internacional de la Viña y el Vino,

CONSIDERANDO los trabajos de los grupos de expertos “Especificación de los productos enológicos” y “Microbiología”,

DECIDE completar el Codex Enológico Internacional con la monografía siguiente:

## AUTOLISADOS DE LEVADURAS

### 1. OBJETO, ORIGEN Y ÁMBITO DE APLICACIÓN

Los autolisados de levaduras se utilizan como nutrientes para la rehidratación de las levaduras secas activas destinadas a la fermentación alcohólica, así como en calidad de nutrientes durante la fermentación alcohólica. Proceden de biomasa de levaduras de tipo *Saccharomyces spp*. Se obtienen a partir de una biomasa de levadura, tras una autolisis, en ocasiones, combinada con tratamientos térmicos y/o modificaciones del pH. La autolisis es el proceso de autodigestión de las proteínas y demás componentes celulares por las enzimas de las células de la levadura.

Las técnicas de producción del microorganismo son las convencionalmente utilizadas para la biomasa de levadura. No se añade ningún antibiótico en el proceso, ni tampoco más compuestos que los estrictamente necesarios para el crecimiento de la levadura. Si los autolisados proceden de levaduras genéticamente modificadas, deben contar con la autorización previa de la autoridad competente.

### 2. ETIQUETADO

La etiqueta debe incluir:

- el nombre del género y de la especie, del autolisado de levaduras
- el contenido de nitrógeno orgánico,
- el contenido de aminoácidos,
- los aditivos agregados,
- el manual de instrucciones,

*Certificado conforme*
*Bucarest, 7 de junio de 2013*
*El Director General de la OIV*
*Secretario de la Asamblea general*

*Federico CASTELLUCCI*

© OIV 2013

- el número del lote, la fecha de caducidad y las condiciones de conservación (temperatura, humedad y ventilación),
- si es necesario, la indicación de que los autolisados provienen de levaduras obtenidas por modificación genética y, en tal caso, el carácter modificado.

## 3. CARACTERÍSTICAS

Se presentan en polvo, en copos o granulados, con un color entre amarillo claro y marrón y un olor característico a levadura. También pueden encontrarse en estado líquido, de un color entre amarillo ocre y marrón.

Los autolisados de levadura son fácilmente solubles en agua. La parte soluble es inferior al 80 % de la materia seca. La porción soluble de la materia seca presente en el autolisado solubilizado también debe ser inferior al 80 %.

## 4. LÍMITES Y MÉTODOS DE ENSAYO

### 4.1 – Nitrógeno

4.1.1. El contenido de nitrógeno total, expresado como elemento N, debe ser inferior al 12 % de la materia seca, siguiendo el método de análisis descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional.

4.1.2. El contenido de nitrógeno amoniacal, expresado como elemento N, debe ser inferior al 0,5 % de la materia seca. Se determina según el siguiente método:
Poner 1 g de materia seca en 100 mL de KCl 0,5 M, agitar durante un período comprendido entre 20 y 30 minutos e introducir en el equipo para el tratamiento por vapor de agua descrito en el Capítulo II del Codex Enológico Internacional para el análisis del nitrógeno total, añadir 50 mL de hidróxido de sodio al 30 % (R), destilar y recuperar 250 mL en un matraz cónico que contenga 5 mL de ácido bórico al 4 % (R), 10 mL de agua y 2 o 3 gotas de un indicador compuesto por una mezcla del rojo del metil y del azul del metileno (R). Titular el destilado con ácido clorhídrico 0,1 M hasta alcanzar el color rosa-violeta en el indicador.
1 mL de solución de ácido clorhídrico se corresponde con 1,4 mg de nitrógeno N.
Siendo *n* el número de mL vertidos: 100 g de levaduras secas inactivadas contienen 0,14•*n* g de nitrógeno amoniacal expresado como elemento N.

4.1.3. El contenido de nitrógeno orgánico se obtiene a razón de la diferencia entre la cantidad de nitrógeno total y la cantidad de nitrógeno amoniacal.

4.1.4. El contenido de aminoácidos, en equivalente de glicina, debe suponer entre el 10 y el 20 % de la materia seca, según el método DNFB, que se describe en el anexo, mientras que si se expresa como elemento N, debe suponer entre el 1,9 y el 3,7 % de la materia seca.

### 4.2 – Humedad

Se mide según la pérdida de peso de 5 g de producto, secado a 105 ºC hasta alcanzar un peso constante (alrededor de 3 horas).

*Certificado conforme*
*Bucarest, 7 de junio de 2013*
*El Director General de la OIV*
*Secretario de la Asamblea general*

*Federico CASTELLUCCI*

© OIV 2013

La humedad máxima para el estado sólido deberá ser inferior al 7 %.

Los límites de metales pesados se refieren a materia seca en estado seco o líquido.

**4.3 – Plomo**
Proceder al análisis según el método indicado en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
El contenido debe ser inferior a 2 mg/kg de materia seca.

**4.4 – Mercurio**
Proceder al análisis según el método indicado en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
El contenido debe ser inferior a 1 mg/kg de materia seca.

**4.5 – Arsénico**
Proceder al análisis según el método indicado en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
El contenido debe ser inferior a 3 mg/kg de materia seca.

**4.6 – Cadmio**
Proceder al análisis siguiendo el método indicado en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
El contenido debe ser inferior a 1 mg/kg de materia seca.

**4.7 – Levaduras viable**
Proceder al recuento según el método indicado en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
El número deberá ser inferior o igual a $10^2$ UFC/g o mL en estado líquido.

**4.8 – Mohos**
Proceder al recuento según el método indicado en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
El número deberá ser inferior a $10^3$ UFC/g o mL en estado líquido.

**4.9 – Bacterias lácticas**
Proceder al recuento según el método indicado en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
El número deberá ser inferior a $10^3$ UFC/g o mL en estado líquido.

**4.10 – Bacterias acéticas**
Proceder al recuento según el método indicado en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
El número deberá ser inferior a $10^3$ UFC/g o mL estado líquido.

**4.11 – Salmonella**
Proceder al recuento según el método indicado en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
La ausencia deberá ser comprobada en una muestra de 25 g o mL en estado líquido.

**4.12 – Escherichia coli**
Proceder al recuento según el método indicado en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
La ausencia deberá ser comprobada en una muestra de 1 g o mL en estado líquido.

**4.13 – Staphylococcus**
Proceder al recuento según el método indicado en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
La ausencia deberá ser comprobada en una muestra de 1 g o mL en estado líquido.

*Certificado conforme*
*Bucarest, 7 de junio de 2013*
*El Director General de la OIV*
*Secretario de la Asamblea general*

*Federico CASTELLUCCI*

© OIV 2013

**4.14 – Coliformes**
Proceder al recuento según el método indicado en el capítulo II del Codex Enológico Internacional.
El número deberá ser inferior a $10^2$ UFC/g o mL en estado líquido.

**5. ADITIVOS**
Deberán cumplir con la legislación vigente.

**6. CONSERVACIÓN**
Los autolisados de levadura deben siempre conservarse al abrigo del aire en bolsas herméticas. Almacenar en un lugar fresco y seco.

En todos los casos, seguir las prescripciones del fabricante.

*Certificado conforme*
*Bucarest, 7 de junio de 2013*
*El Director General de la OIV*
*Secretario de la Asamblea general*

*Federico CASTELLUCCI*

© OIV 2013

**Anexo 1**

**Método con Dinitrofluorobenceno**

**1. Introducción**
Este método permitirá dosificar rápidamente el nitrógeno aminado en una solución biológica con respecto a una gama patrón elaborada con una solución de glicina.

**2. Ámbito de aplicación**
Productos enológicos de origen vegetal o animal

**3. Definición**
El Dinitrofluorobenceno o DNNFB reacciona con las funciones $NH_2$ libres que están en los aminoácidos para generar un compuesto de color amarillo vivo dosificado por colorimetría a 420 nm. La reacción tiene lugar con un pH > 9,3.

**4. Reactivos y productos**
Reactivos:
- Bórax o tetraborato del sodio,
- Dinitrofluorobenceno,
- Ácido clorhídrico 10 M,
- Glicina.

**5. Equipo**
- Tubos de hemólisis,
- Micropipetas,
- Espectrofotómetro visible,
- Baño de agua a 60 ºC.

**6. Muestreo**
- Preparar una solución de tetraborato de sodio a 5% en agua pura,
- Preparar una solución con DNFB: introducir 130 µl de DNFB en 10 ml de etanol à 95 % vol,
- Preparar una solución de ácido clorhídrico 2 M,
- Elaborar una gama patrón a partir de una solución madre de glicina a 2 g/l (M=75,07 g) por ejemplo, 0,50 mg/l; 100 mg/l; 200 mg/l; 500 mg/l,
- Preparar una solución de 2 g/l del producto que hay que dosificar.

**7. Procedimiento**
- En un tubo de hemólisis introducir:

- 380 µl de Bórax a 5%,
- 20 µl de la muestra que hay que dosificar,
- 20 µl de la solución de DNFB,
- Proceder de igual modo para la gama de glicina,
- Agitar y poner al baño de agua a 60 ºC durante 30 minutos,
- Añadir 3 ml de HCL 2M,
- Agitar y leer la absorbancia específica a 420 nm para la muestra,

*Certificado conforme*
*Bucarest, 7 de junio de 2013*
*El Director General de la OIV*
*Secretario de la Asamblea general*

*Federico CASTELLUCCI*

© OIV 2013

- Realizar una recta patrón con la gama de glicina.

**8. Resultados**

Incluir el valor de la absorbancia a 420 nm de la muestra en la recta patrón.

Los resultados se expresarán en g/l de glicina.

*Certificado conforme*
*Bucarest, 7 de junio de 2013*
*El Director General de la OIV*
*Secretario de la Asamblea general*

*Federico CASTELLUCCI*

© OIV 2013